Lane Medical Library

Aus dem hygienischen Institut.

Beiträge

zur

Kenntnis der desinfizierenden Wirkung des Chloroforms,

namentlich im gasförmigen Zustand.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer hohen medizinischen Fakultät zu Heidelberg

vorgelegt von

Wilhelm Lossen

aus

Heidelberg.

Dekan:
Geh. Rat Czerny.

Referent:
Hofrat Knauff.

Heidelberg.
Universitäts-Buchdruckerei von J. Hörning.
1899.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153311_0076

I. Litteratur.

Die desinfizierenden und konservierenden Eigenschaften des Chloroforms sind schon ziemlich lange bekannt.

Augend (1851)[1]) bewahrte Fleisch in festverschlossenen Flaschen auf, in die er einige Tropfen Chloroform gegossen hatte und fand, dass dasselbe vollständig der Fäulnis widerstand.

Clemens (1852)[2]) tötete Tiere unter einer gut schliessenden Glasglocke mit Chloroformdämpfen und sah ebenfalls keine Fäulnis eintreten, wenn er die Tiere unter der Glocke liegen liess.

Robin (1851)[3]) schlug Chloroform zur Konservierung von Getreide vor.

Münz[4]) wies nach, dass Chloroform Gährungen aufhebt, die durch organisierte Fermente bedingt sind und empfahl es 1867 gemeinsam mit Monkton[5]) zur Konservierung des Fleisches.

De la Croix[6]) untersuchte zuerst genauer die Wirkung von Chloroform auf Fleischwasserbakterien und fand Entwicklungshemmung, wenn er Chloroform im Verhältnis von 1 : 90 und Abtötung entwickelter Bakterien, wenn er Chloroform im Verhältnis von 1 : 112 zusetzte. Dagegen wurde das Fortpflanzungsvermögen der Bakterien auch bei Zusatz von 1 : 0,8 nicht gehemmt.

---

1) S. Schmiedeberg, Arzneimittellehre 1895.
2) Ebendaselbst.
3) Compt. rend. t XX, Nr. 2.
4) Compt. rend. t LXXX, Nr. 1250.
5) Engl. P. S. Nr. 1493 vom 20. Mai 1867.
6) Archiv für experimentelle Pathologie Bd. XIII, S. 250.

Auch R. Koch[1]) fand Unwirksamkeit des Chloroforms auf Milzbrandsporen selbst bei 100tägiger Einwirkung.

Therapeutisch wurde die desinfizierende Eigenschaft des Chloroformwassers auf Rat von Desprez[2]) schon 1875 bei Cholera verwendet. Die Ergebnisse waren günstig. So erzielte Cossini, wie Desprez berichtet, in der Choleraepidemie von Damas 1875/76 unter je 10 schweren Fällen annähernd 8 Heilungen und Dr. Follet in Pondichery unter 136 Fällen 72 % Heilungen. Letzterer verwendete eine Mischung von

Chloroform	1,0
Alkohol	8,0
Wasser	100,0
Morphinisierter Chloralhydratsyrup	40,0

halbstündlich ein Esslöffel.

Schaffer (1883)[3]) benützte Chloroformwasser mit Zusatz von Alkohol als Mundwasser und zur Desinfektion des Darmkanals und wendete es erfolgreich bei einer Massenvergiftung mit verdorbenen Thunfischen an.

Die desinfizierende Wirkung von Chloroform wurde dann eingehend untersucht von Salkowski 1888 und Kirchner 1890.

Salkowski[4]) fand, dass organisierte Fermente durch Schütteln mit Chloroform, bei gutem Verschluss, in ihrer Wirkung gehindert werden, während die löslichen, nicht organisierten Fermente unverändert bleiben. So wurde Rohrzucker nur invertiert, ohne zu gähren. Milch blieb alkalisch, erstarrte aber nach 3 Monaten zu einer weichen Gallerte, die sich durch Schütteln in einen weissen Bodensatz von Kasein und Fett und in eine gelbliche, eiweisshaltige Flüssigkeit trennte; eine Erscheinung, die schon Meissner bei steriler Milch beobachtet und auf langsam wirkende Fermente

1) Mitteilungen des Reichsgesundheitsamtes Bd. I, S. 234—282.

2) Despnez, Du traitement rationel du choléra etc. Bull. gén. de thérap. 15. November 1881.

3) Schaffer, Ludwig, Die Anwendung des Chloroforms als Präparat von hohem Chlorgehalt. Allgem. Wiener med. Zeitung Nr. 21, S. 214.

4) Deutsche med. Wochenschrift 1888, Nr. 16, S. 309.

bezogen hatte. Frischer und fauler Urin liess sich sicher sterilisieren, und nur bei starker Infektion des Urins trat eine weitere Zerlegung des Harnstoffes durch die schon gebildeten Fernente ein. Eiweissreiche Transsudate, frischer und faulender Fleischauszug wurden durch Chloroform in kurzer Zeit sterilisiert. Gehacktes Fleisch hielt sich ebenfalls gut, doch stellte sich allmählich ein ranziger Geruch ein. In $^1/_2$ % Chloroformwasser wurden sporenfreie Milzbrandbazillen an Seidenfäden nach $^1/_2$ Stunde abgetötet und ebenso in der Milz einer milzbrandkranken Maus. Milzbrandsporen dagegen, die 2 Tage in Chloroform lagen, blieben unversehrt und töteten noch Meerschweinchen; auch zeigten solche nach 3 Tagen nur wenig geringere Entwicklung in Gelatine als die Kontrolle.

$^1/_4$ % Chloroformwasser vernichtete Cholerabazillen schon nach einer Minute.

Salkowski empfiehlt deshalb Chloroform zum Konservieren von anatomischen Präparaten, ferner von Harn, wässerigen Fermentlösungen, Eiweissflüssigkeiten und überall da, wo grosse Hitze bei der Sterilisierung nicht vertragen wird. Die Methode, die Salkowski benützte, war folgende: Die zu sterilisierende Flüssigkeit wurde mit überschüssigem Chloroform versetzt, mit Glasstopfen oder Kork gut verschlossen und geschüttelt. Die Sterilisierung trat nur ein, wenn die Chloroformlösung gegen Verdunstung gut verschlossen war.

Auch zu therapeutischen Zwecken empfiehlt Salkowski das Chloroform. In einer zweiten Arbeit[1]) wies er nämlich nach, dass Tiere ohne Schaden eine viel grössere Menge Chloroformwasser vertragen, als die vorgeschriebene Maximaldosis des Chloroforms beträgt, und dass dabei die Bakterienmenge im Darm sich erheblich vermindert. Er rät deshalb, Chloroformwasser zur Desinfektion des Darmkanals zu verwenden und besonders bei Cholera, was ja auch die oben genannten günstigen Ergebnisse von Desprez zu bestätigen scheinen.

Kirchner — „Ueber die Einwirkung des Chloroforms

1) Deutsche med. Wochenschrift 1888, Nr. 16, S. 309.

auf die Bakterien" —[1]) untersuchte namentlich die Wirkung des in Serum gelösten Chloroforms. Er fand, dass Blutserum mit Spreewasser versetzt nach 2 Stunden, mit Kanalwasser und mit Menschenkot geimpft nach 4 Tagen steril wurde, wenn Chloroform im Ueberschuss zugeschüttet war. Chloroformserum mit Gartenerde vermischt zeigte nach 22 Tagen noch deutliches Bakterienwachstum und war erst nach 7 Monaten vollkommen steril. Nicht steril wurde Serum, gemischt mit faulendem Blut, mit Rinderhaaren und Rinderkot in 4—9 Tagen. Das Wachstum stammte hierbei nur von sporenbildenden Bazillen. Ebenso gelang es nicht in mehrfachen Versuchen, Milch zu sterilisieren; dennoch hielt sie sich 2 Monate hindurch flüssig, zeigte alkalische Reaktion und einen leichten weisslichen Bodensatz. In Wasser und Bouillon fand, entsprechend dem höheren Lösungsverhältnis des Chloroforms, Abtötung leichter statt, als in Serum. Ebenso leichter bei Zimmer- und Bruttemperatur, als in der Kälte, da die Sporen in der Wärme zu Bazillen auswachsen und dann der Zerstörung anheim fallen. In Chloroformwasser gingen zu Grunde:

Cholerabazillen in 1 Minute, sporenfreie Milzbrandbazillen in 10 Minuten.

In Chloroformblutserum wurden abgetötet:

Sporenfreie Milzbrandbazillen nach 30 Minuten, Staph. pyogenes aureus nach 30—40 Minuten. Frische Bouillonkulturen von Typhusbazillen, Bazillus subtilis, B. Zopfii, Wurzelbazillus wurden vor einer Stunde steril. Unverändert blieben noch nach Wochen die Sporen von Milzbrand und von Bazillus subtilis, ferner Sarcina aurantiaca nach 28 Tagen und Tetanussporen nach 3 Tagen.

Unwirksam ist nach Kirchner reines ungelöstes Chloroform.

Kirchner empfahl namentlich zur Sterilisierung von Serum das Chloroform. Er wies nach, dass es der fraktionierten Sterilisation nach Tyndall überlegen ist und leicht durch Verdampfen entweicht, ohne spätere Kulturen am

1) Zeitschrift für Hygiene Bd. VIII, S. 465—488.

Wachstum zu hindern. Auf erstarrtem Chloroformserum konnte er Orange-Sarcine, Bazillus prodigiosus und Tuberkelbazillen züchten. Die Desinfektionswirkung des Chloroforms trat eben nur bei genauestem Verschluss ein und hatte später auf dem Nährboden keinen bakterienhemmenden Einfluss mehr. Nur die Durchsichtigkeit des Serums hatte etwas gelitten.

Trotz der mannigfachen Empfehlungen Salkowskis und Kirchners hat das Chloroform bei der Sterilisierung namentlich des Serums nicht genügende Beachtung gefunden.

Dies und einige Misserfolge, die ich selbst bei der Desinfektion mit Chloroform hatte, veranlassten mich, die Versuche Salkowskis und Kirchners wieder aufzunehmen.

Ich wiederholte zum Teil diese Versuche, die nur mit gelöstem Chloroform ausgeführt waren und fügte ihnen noch solche mit Chloroformdampf hinzu. Dabei suchte ich die Verwendung des Chloroforms zu vereinfachen und Fehlerquellen zu beseitigen, die durch sein spezifisches Gewicht und seine Flüchtigkeit bedingt werden.

II. Methoden der Desinfektion mit Chloroform.

1. Chloroform in Lösung.

Im Anschlusse an die Arbeiten von Salkowski und Kirchner prüfte ich zuerst Chloroform in gesättigter Lösung, und zwar in Wasser als 0,5 % Chloroformwasser, in Milch als 0,5 % und in Serum als 0,4 % Lösung.

Nach Salkowski sollte der zu desinfizierenden Flüssigkeit Chloroform im Ueberschuss zugesetzt, das Gefäss mit eingeschliffenen Glasstopfen verschlossen und nun gut geschüttelt werden. Diese Vorschriften hatte ich, wie es mir schien, genau beobachtet, den gut eingeschliffenen Glasstopfen fest schliessend aufgesetzt und noch mit einem Gummiring auf das Reagensglas befestigt, damit er nicht bei der Erwärmung durch die eingeschlossene Luft abgehoben würde. Auch war die Flüssigkeit gut durchgeschüttelt worden.

Gleichwohl erhielt ich immer Bakterienwachstum.

Die folgende Tabelle zeigt das erzielte, sehr mangelhafte Desinfektionsresultat.

40 Reagensgläschen wurden auf die angegebene Weise mit je 10 ccm steriler Bouillon und verschiedenen Mengen Chloroform versetzt und mit zwei Arten Bact. Coli, mit Bacill. Typhi, Anthracis und Staphylococcus Aureus geimpft.

Tabelle I.

Wachstum in Chloroformbouillon bei 37° C. nach 23 Tagen.

Chloroformzusatz von	0%	1%	2%	3%
B. Coli I	++	++	++	—
B. Coli II	++	++	++	++
B. Typhi	+	—	+	+
Milzbrand	+	±	—	—
Staph. aureus . . .	+	+	+	+

++ = starkes Wachstum,
+ = Wachstum,
± = zweifelhaftes Wachstum,
— = kein Wachstum.

Der gleiche Versuch wurde bei 27° C. wiederholt und hatte ein ebenso unsicheres Ergebnis.

Dass ein Versuchsfehler vorlag, bewies die Unregelmässigkeit des Desinfektionsresultates. Es wurde vermutet, dass der Fehler in einer mangelhaften Dichtigkeit des Verschlusses lag und dass die eingeschliffenen Flächen für Chloroformgas durchlässig waren.

Um einen sichern Verschluss zu haben, wurden deshalb in dem folgenden Versuch die Reagensgläser zugeschmolzen, nachdem sie mit Chloroformbouillon gefüllt und mit Reinkulturen geimpft waren. Verwendet wurden: B. pyocyaneus, B. typhi, B. mesentericus vulgatus und ein anderer, nicht genau bestimmter Bazillus, der aber gegen Chloroform sehr widerstandsfähig war. Diesmal blieben alle mit Chloroform versetzten Röhrchen steril, während in den Kontrollkulturen reichliches Wachstum eintrat.[1])

1) Die Röhrchen zeigten sich auch steril, als sie unter Vermeidung von Luftinfektion mehrere Tage offen in den Brutschrank gestellt und dann auf frische Bouillon übergeimpft wurden. Dieser Nachweis des Wachstums wurde bei allen Versuchen angewendet und war empfindlicher als die sofortige Ueberimpfung.

Tabelle II.

Wachstum in Chloroformbouillon in abgeschmolzenen Reagensgläsern bei 37° C.

Chloroformzusatz von	0%	1%	3%	5%
B. pyocyaneus . . .	+	—	—	—
B. typhi	+	—	—	—
B. mesent. vulg. . .	++	—	—	—
Unbekannter Bac. . .	+	—		—

Nach diesen überraschend guten Resultaten konnte kein Zweifel bleiben, dass die erste Bedingung für eine erfolgreiche Wirkung des Chloroforms die Herstellung eines sichern und brauchbaren Verschlusses für die zu desinfizierenden Flüssigkeiten sein musste.

Ein Verschluss durch Quecksilber oder Abschmelzen der Glasgefässe war zwar sicher, aber sehr umständlich; die meisten andern gebräuchlichen Verschlussarten, wie Kork, Kautschuk oder Fette waren entweder undicht oder gegen Chloroform nicht widerstandsfähig. Im Folgenden wurden deshalb andere Verschlussarten gesucht und geprüft.

Zunächst fand sich in Wasser und wässerigen Flüssigkeiten ein brauchbares Dichtungsmittel, obwohl es 0,5% Chloroform löst. Mit Wasser befeuchtete eingeschliffene Glasstopfen schlossen deshalb vollkommen dicht.

Ein besseres, in Chloroform völlig unlösliches Mittel war Unguentum glycerini, wegen seiner Konsistenz leicht als Ersatz für Fett und Paraffin zu verwenden.

Schliesslich konnte auch mit dem Chloroform stark absorbierenden Kautschuk ein guter Verschluss hergestellt werden, wenn er die Chloroformlösung ganz berührte. Kautschuk absorbierte nur verdampftes oder reines flüssiges Chloroform, vermochte es aber nicht einer wässerigen Lösung direkt zu entziehen.

Ich versuchte zunächst mit eingeschliffenen Glasstopfen einen dichten Verschluss herzustellen und wiederholte den ersten Versuch, feuchtete aber die eingeschliffenen Flächen mit sterilem Wasser an, um sie dichter zu machen.

Nun zeigte sich auch hier in keinem der Röhrchen Bakterienwachstum nur die Kontrollkulturen lieferten ein solches.

Tabelle III.

Chloroformzusatz von		0 %	1 %	3 %	5 %
Bact. Coli . . .	Wachstum	+	—	—	—
Bact. Coli . . .		+	—	—	—
B. Typhi . . .		+	—	—	—
B. pyocyaneus . .		+	—	—	—

Zur Sicherheit wurde mit denselben Röhrchen nochmals ein Kontrollversuch gemacht, wobei die geschliffenen Flächen nicht befeuchtet wurden; hier zeigte sich trotz des Chloroformzusatzes wieder Wachstum.

Tabelle IV.

Wachstum in Chloroformbouillon bei Abschluss mit trockenen eingeschliffenen Glasstopfen.

Chloroformzusatz	0 %	1 %	3 %	5 %
Bact. Coli	++	—	+	+

Hiermit war bewiesen, dass zum sicheren Verschlusse der eingeschliffenen Glasstopfen deren Befeuchtung gehört. Das von Salkowski angegebene Schütteln bewirkt dieses in vielen Fällen. Werden die Stopfen auf irgend eine andere Weise benetzt, so erweist sich das Schütteln als entbehrlich. Besser als Wasser eignet sich das Glycerin zum Verdichten des Verschlusses gegen Chloroformverdunstung. Glycerin löst sich nicht in Chloroform und trocknet nicht ein. Will man ein konsistenteres Dichtungsmittel, ähnlich dem Fett und der Vaseline, die in Chloroform löslich und deshalb hier unbrauchbar sind, so kann man sehr gut das officinelle Unguentum glycerini brauchen, eine Mischung von Glycerin mit Tragarantha. Dieses schliesst so sicher, dass Deckgläschen und Fliesspapierstreifen, die mit Unguentum glycerini auf Reagensgläser aufgeklebt wurden, genügenden Abschluss gaben, um B. coli in Bouillon sicher mit Chloroform zu sterilisieren.

Kautschuk und Korkverschluss genügte ebenfalls nicht zur Erzielung einer Desinfektion mit Chloroform.

Zur Probe füllte ich 20 Röhrchen mit Bouillon und den unten genannten Bakterien, versetzte sie mit Chloroform und schloss sie in „feuchte Kammern“ mittels Kautschuckstopfen ein. Der Verschluss war ungenügend; in sämtlichen Röhrchen trat Wachstum ein.

Tabelle V.

Wachstum in Chloroformbouillon bei Kautschukverschluss.

Chloroformzusatz von		0 %	1 %	3 %	5 %
Bact. coli I	Wachstum	++	++	++	++
Bact. coli II		+	+	+	+
B. Typhi		+	+	+	+
Staph. aureus		+	+	+	+
B. pyocyaneus		++	+	+	+

Dasselbe Fehlresultat ergaben die gleichen Versuche mit Korkstopfenverschluss; in einem Röhrchen mit 1 % und in einem andern mit 5 % Chloroformzusatz trat starkes Wachstum von B. Coli ein.

Wie ich mich durch Wägungen überzeugte, war der Kautschukverschluss zwar vollständig dicht, doch hatte der Kautschuk sehr viel Chloroform absorbiert. Auch zeigte der Versuch, dass ein Kautschukstopfen, der in Chloroformdämpfen lag, in einem Tag 7 g zunahm und schwarz und brüchig wurde.

Der Korkverschluss war überhaupt undicht; denn das Gesamtgewicht einer mit Kork verschlossenen „feuchten Kammer" nahm in wenigen Tagen um 16 mgr, das einer andern sogar um 56 mgr ab. Es war demnach Chloroform verdunstet. Auch zeigten sich die Korkstopfen weisslich verfärbt, was darauf schliessen liess, dass auch Kork von Chloroform angegriffen wird.

Obwohl Kautschuk Chloroform stark absorbiert, erwies er sich doch in den folgenden Versuchen gegen Chloroformlösungen genügend widerstandsfähig, um brauchbare Desinfektionsresultate zu vermitteln.

Das Verfahren war einfach. Der Kautschukstopfen musste nur so auf die Glasröhrchen gesetzt werden, dass er die Lösung völlig berührte. In den unten angeführten und allen in ähnlicher Weise angestellten Versuchen kam dann die Desinfektionskraft des Chloroforms zur vollen Geltung. Sowie sich aber zwischen Flüssigkeit und Stopfen eine kleine Luftschicht befand, trat stets Wachstum ein. Die Luft hatte also den Chloroformverlust aus den Lösungen vermittelt und Kautschuk vermochte zwar aus der Luftschicht das verdampfte, nicht aber das in Wasser gelöste Chloroform aufzunehmen.

Die Thatsache fand sich gelegentlich bei folgendem Versuche: 2 Röhrchen wurden mit inficierter Chloroformbouillon bis zum Rande gefüllt, dann der Kautschukstopfen, ohne dass irgendwie Luft eindringen konnte, mittels Pinzette aufgesetzt. Beide Röhrchen blieben dauernd steril. Zur Kontrolle setzte ich in derselben Weise denselben Kautschukstopfen auf ein anderes Röhrchen, in welches inficierte Bouillon, aber kein Chloroform ein-

gefüllt war — hier trat intensives Bakterienwachstum ein. Auch die Wiederholung des Versuches führte zum gleichen Ergebnis. Eine antiseptische Wirkung des Kautschukstopfens war also auszuschliessen. Diesen bequemen Verschluss mit Kautschukstopfen benützte ich später mehrmals bei der Sterilisierung von Serum in etwas abgeänderter Weise. Ich füllte Kochflaschen mit Serum und 1% Chloroform und legte sie einfach um, sodass das überschüssige Chloroform in die Rundung der Flasche kam, wobei ein Teil des Serums im Flaschenhalse den Kautschukstopfen vollständig bedeckte. Die in der Flasche noch enthaltene Luft befand sich in der Rundung der Flasche und war vom Kautschukstopfen durch eine Flüssigkeitsschicht getrennt, sodass sie keinen Chloroformverlust vermitteln konnte.

Vollständigen Abschluss gegen Chloroformverdunstung aus der Flüssigkeit gewährt auch das Umkehren der mit Kautschuk oder Kork verschlossenen Flasche. Das überschüssige Chloroform sammelt sich dann auf dem Stopfen und gewährt, bis es von demselben absorbiert ist, vollständigen Abschluss gegen Verdunsten aus der Flüssigkeit.

Kleine Serummengen werden am besten durch Chloroform in gasförmigem Zustande zum Zweck der Sterilisierung behandelt.

2. Desinfektion mit Chloroformdämpfen.

Die desinfizierende Wirkung der Chloroformdämpfe untersuchte ich bei dichtem und undichtem Verschlusse. Ich beschickte Reagensgläser mit infizierter Bouillon und liess über der Bouillon Chloroform aus einem Wattestopfen oder einem kleinen Glasgefäss frei verdunsten.

Sowohl bei dichtem Verschluss wie bei dem sonst ungenügenden Verschluss durch trockene Glasstopfen oder Gummistopfen blieb jedesmal das Wachstum aus.

Tabelle VI.

Sterilisierung in Chloroformdämpfen (Bact. coli).

		Kontrolle	1%	3%	$CHCl_3$ 5%
Bei dichtem Verschluss durch Abschmelzen	Wachstum	+	—	—	—
Bei unvollkommenem Verschluss durch Glasstopfen		+	—	—	—
„ Gummistopfen		+	—	—	—

Auch sechs mit Bact. coli geimpfte Bouillonröhrchen wurden durch Chloroformdampf unter Kautschukverschluss steril. Nur die Kontrollen zeigten Wachstum.

Auf dieselbe Weise wurde Neckarschlamm in Bouillon steril, und zwar im abgeschmolzenen Reagensglas durch $^1/_2$% Chloroformzusatz, bei Verschluss mit Gummistopfen durch 1% Chloroformzusatz.

Aus den angeführten Versuchen lässt sich ersehen, dass eine Sterilisierung mit Chloroformdampf gut gelingt und dass sie auch ohne dichten Abschluss zu Stande kommt. Ich benützte sie bei den meisten Versuchen in folgender Weise:

Grössere Flüssigkeitsmengen in Glaskolben wurden so behandelt, dass ein Reagensglas mit der nötigen Chloroformmenge in die Flüssigkeit gestellt und der Hals des Kolbens mit Kautschukstopfen verschlossen wurde.

Kleinere Serummengen in Reagensgläsern wurden einfacher in einem mit Chloroformdampf gefüllten verschlossenen Gefässe sterilisiert, z. B. Exsikkator oder Präparatenglas (nicht in einer Glasglocke). Die gefüllten Röhrchen wurden mit Wattepfropf versehen hineingestellt und Chloroform, mindestens $^1/_2$% der Serummenge in den Exsiccator gegossen. Der Verschluss wurde noch mit Ungt. glycerini dicht gemacht oder mehr Chloroform zugegossen. Die Röhrchen blieben 5 Tage in Chloroformdampf, wurden dann herausgenommen und konnten nach eintägigem Stehen an der Luft zu Reinkulturen verwendet werden, da Chloroform sehr rasch wieder verdampfte. In meinen Versuchen wurden dann alle Röhrchen zur Probe mehrere Tage in den Brutschrank gestellt; bei praktischem Gebrauche wäre dies aber nur bei stark verunreinigtem Serum nötig, um dann die infizierten Röhrchen auszuscheiden.

III. Wirkungsweise des Chloroforms bei der Desinfektion von Flüssigkeiten.

Die in dem Vorhergehenden ausführlich mitgeteilten Methoden der Desinfektion mit in Wasser gelöstem Chloroform

und Chloroformdampf zeigten den durchgreifenden Unterschied, dass Chloroform in Lösung nur bei durchaus dichtem Verschlusse wirksam war, während Chloroformdampf auch bei mangelhaftem Verschlusse Bakterienwachstum sicher aufhob. Die folgende kurze Versuchsanordnung (Tabelle VII) möge dies nochmals veranschaulichen.

Tabelle VII.

Abtötung von Bact. Coli bei undichtem Abschluss.

Chloroformzusatz		0 %	1/2 %	1 %	3 %	5 %
a) in Lösung .	Wachstum				++	++
b) in Dampfform		++	+	—	—	—

Bei diesen Versuchen also hatte selbst eine 5prozentige Chloroformlösung das Bakterienwachstum nicht gehindert, während 1 % Zusatz von verdampfendem Chloroform für die Abtötung der Bouillonkultur schon ausreichte.

Wie war diese verschiedene Desinfektionswirkung des gelösten und des gasförmigen Chloroforms bei unvollkommenem Verschluss zu erklären?

Ich untersuchte zuerst, wie viel gelöstes Chloroform während der Desinfektionszeit durch die kleine Undichtigkeit des im vorigen Versuche verwandten Verschlusses verloren gehen konnte. Dies waren 0,3 %. [1]) Es blieb der Lösung also noch weit mehr Chloroform, als zur Sättigung nötig war. Ich vermutete deshalb ungleichmässige Verteilung des Chloroforms in der Lösung, namentlich weil auch das Bakterienwachstum stets in den obern Partieen der Nährflüssigkeiten auftrat, während die Tiefe frei blieb. Es liess sich das durch den folgenden Versuch unmittelbar nachweisen. Sterile, mit Chloroform gut geschüttelte Bouillon blieb offen in sterilem Becherglase

1) Da Wägungen ungenau blieben, machte ich zur Bestimmung des Chloroformverlustes folgenden Versuch: Ich bestimmte die kleinste Chloroformmenge, die nötig war, um während der Desinfektionsdauer trotz beständiger Verdunstung die Luft über der Chloroformlösung im Reagensglas zu sättigen, sodass Verdunstung aus der Lösung selbst verhindert wurde. Diese Menge war dem grösstmöglichen Chloroformverlust aus der Lösung während der Desinfektionsdauer gleichzusetzen. Ich nahm 6 Röhrchen mit durch

stehen, bis sich die überschüssigen Chloroformtröpfchen gesenkt hatten. Dann wurden 2 Deckgläschen mit angetrockneten eintägigen Kulturen von Bact. Coli in die Flüssigkeit eingesenkt, ein Deckgläschen in die Tiefe der Flüssigkeit, das andere dicht unter die Oberfläche. Nach zwei Stunden wurde die Bouillon abgeschüttet und die Gläschen mit Agar übergossen. An dem oben liegenden Deckglas trat reichliches Wachstum von Bact. Coli ein, an den unteren wuchs keine einzige Kolonie.

Den Grund der ungleichmässigen Verteilung des Chloroforms vermutete ich in seinem hohen spezifischen Gewicht — 1½mal höher wie Wasser; die mit Chloroform gesättigten Bouillonteilchen sinken hierdurch nach unten, die chloroformfreien steigen nach oben. Der Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme war geliefert, wenn es mir gelang, die 3 verschieden schweren Schichten Luft, Bouillon, Chloroform in umgekehrter Reihenfolge, entgegen ihrem spezifischen Gewichte ohne Abschluss gegeneinander anzuordnen und damit Desinfektion zu erzielen. Nach einigen, mehr oder weniger missglückten, Versuchen mit W-förmigen Röhren und U-förmigen Gährungsröhren gelang der Versuch auf folgende Weise:

In 2 Kapillarröhrchen von 1½mm Weite brachte ich 5 % Chloroform, darüber mit Bact. Coli infizierte Bouillon und schmolz beide an der Seite des Chloroforms ab. Das eine Röhrchen wurde zur Kontrolle auf das zugeschmolzene Ende gestellt, das zweite Röhrchen stand umgekehrt, sodass sich oben Chloroform, darunter Bouillon und die Oeffnung, also auch die Luft befand.

Das Kontrollröhrchen, in welchem, der Schwere entsprechend, Chloroform zu unterst lag, zeigte starkes Wachstum, das andere Röhrchen, in dem Chloroform die oberste Schicht bildete, blieb steril. Bei letzterem wurde die unterste Bouillonschicht, in welcher Chloroform ver-

1 % Chloroform gesättigter, gut geschüttelter Bouillon, brachte in den Wattestopf darüber ausserdem 0,1—0,5 % Chloroform und verschloss sie mit undichtem Verschluss (Kautschukstopfen).

Tabelle VIII.

Chloroform-zusatz	in Bouillon	1 %	1 %	1 %	1 %	1 %	1 %
	im Wattepfropf	0 %	0,1 %	0,2 %	0,3 %	0,4 %	0,5 %
Wachstum		++	+	++	−	−	−

Es zeigte sich, dass ausser dem gelösten Chloroform 0,3 % Chloroform im Wattepfropf nötig waren, um das Bakterienwachstum zu verhindern, das heisst die Verdunstung der Chloroformlösung zu ersetzen.

Dass die 0,3 % Chloroform im Wattepfropf nicht allein die Desinfektion bewirkt hatten, zeigte ein weiterer Versuch, indem bei gleichem Verschluss unter 6 Proben durch 0,5 % Chloroformgas allein nur eine steril wurde, in den andern Wachstum eintrat.

dunstete, immer durch gesättigte Bouillon erneuert, die infolge der Sättigung mit dem schweren Chloroform herabsank. Hierdurch wurde eine gleichmässige Lösung des Chloroforms vermittelt und Desinfektion herbeigeführt. Bei der Kontrolle dagegen trat Wachstum ein, weil die oberste Schicht durch Chloroformverlust leichter wurde und oben blieb, ohne durch die schwereren, chloroformhaltigen Schichten ersetzt zu werden.

Die ungleichmässige Verteilung des Chloroforms in Lösungen war, wie der Versuch bewies, nur durch das spezifische Gewicht bedingt, und bei einer Versuchsanordnung, welche, gleich der oben angegebenen, die ungleichmässige Verteilung des Chloroforms in der Lösung nicht zustande kommen liess, konnte, wie bei Desinfektion mit verdampfendem Chloroform, der dichte Verschluss entbehrt werden.

Gasförmiges Chloroform wird stets an der Oberfläche aufgenommen, so dass eine ungleichmässige Verteilung nicht eintreten kann und ein Verdunsten aus der Lösung ebenfalls ausgeschlossen ist. Schon aus diesen beiden Gründen wird es der Desinfektion mit Chloroformlösungen vorzuziehen sein.

Bei reichlichem Zusatz von Chloroform im Wattestopfen konnte in den folgenden Versuchen ein Abschluss bei der Desinfektion fast ganz entbehrt werden.

Es genügte z. B. den mit 10% (der Bouillonmenge) Chloroform beschickten Wattepfropf etwas tiefer in das Röhrchen hineinzuschieben und dieses nur mit einem Uhrglas zu bedecken. Auch in vollständig offenen Gefässen konnte ich in dieser Weise Bouillon desinfizieren. In vier offenen, 50 cm langen Glascylindern, mit je 10 cbcm infizierter Bouillon wurde der mit 1 cbcm Chloroform getränkte Wattepfropf 5, 10, 20 und 40 cm tief hineingeschoben und sterilisierte die Bouillon in allen Fällen. Das Chloroform verdunstete zwar, senkte sich aber infolge seines hohen spezifischen Gewichts — viermal schwerer als Luft — nach abwärts und desinfizierte, ohne dass offenbar grössere Chloroformverluste eintraten.

Auch schon in offenen, gewöhnlichen Reagenzgläsern konnte Bouillon und Serum mit Chloroform sterilisiert werden, wenn der Wattepfropf möglichst tief hineingeschoben und mit mindestens 5% Chloroform versetzt war. Dagegen trat in fünf Bouillonröhrchen Wachstum ein, in denen ich den mit $^1/_2$%, 1%, 3%, 5%, 10% Chloroform versetzten Wattepfropf nicht tief in das Röhrchen hineingeschoben hatte.

IV. Einfluss der Feuchtigkeit auf die Desinfektion.

Die seitherigen Versuche mit Chloroformdesinfektion wurden lediglich an Flüssigkeiten angestellt. Es blieb also

fraglich, welchen Einfluss die Feuchtigkeit auf die Desinfektionskraft des Chloroforms ausgeübt hatte. Dies zu prüfen benützte ich bei der folgenden Versuchsanordnung:

1. Chloroformgas von gewöhnlicher Lufttrockenheit,
2. mit Wasserdunst gemischtes,
3. durch Chlorkalcium getrocknetes Chloroformgas.

Zu allen drei Versuchen wurden eintägige Bouillonkulturen verwendet, die auf Deckgläsern über Schwefelsäure angetrocknet waren. Die Befeuchtung in Versuch 1 und 2 wurde nur durch die vorhandene Luftfeuchtigkeit bewirkt, die in Versuch 2 durch verdunstendes Wasser vermehrt war. Die Ergebnisse waren die folgenden:

Tabelle IX.

1. Abtötung von Bact. Coli in lufttrockenem Chloroformgas.

	Minuten					Stunden	
Dauer der Chloroformeinwirkung	3	5	10	20	30	1	3
Zahl der Kolonieen . . .	∞	24500	59	0	0	1?	0

2. Abtötung von Bact. Coli in feuchtem Chloroformgas.

	Minuten				Stunden
Dauer der Chloroformeinwirkung .	0	8	15	30	2½
Zahl der Kolonien	∞	200	1	0	0

3. Abtötung von Bact. Coli in getrocknetem Chloroformgas.

	Minuten			Stunden	Tage
Dauer der Chloroformeinwirkung . .	8	15	30	2½	3
Zahl der Kolonien	∞	∞	∞	∞	∞

Am 3. Tage schien unter der Einwirkung des getrockneten Chloroforms das Wachstum etwas abgeschwächt. Es

wurden deshalb die beiden letzten Versuche wiederholt, ergaben aber das gleiche Resultat.

Die drei Tabellen zeigen, dass zur Desinfektionswirkung des Chloroforms Feuchtigkeit notwendig ist, dass aber die normale Luftfeuchtigkeit schon genügt.

Was für gasförmiges Chloroform gilt, musste wohl auch für flüssiges gelten. Die Versuchsanordnung war die gleiche, zuerst Chloroform, wie es aus der Apotheke kam, dann feuchtes Chloroform mit Wasser geschüttelt und durch den Scheidetrichter vom Ueberschuss befreit, zuletzt Chloroform durch Chlorcalcium getrocknet.

Tabelle X.

1. Abtötung von Bact. Coli in gewöhnlichem flüssigem Chloroform.

	Sekunden				Minuten					Stunden			
Zeit der Chloroform-einwirkung	0	5	15	30	1	3	5	10	20	1	2	3	24
Zahl der Kolonien	60000	75000	15000	∞	35000	6100	500	1?	1?	1?	0	0	0

2. Abtötung von Bact. Coli in feuchtem Chloroform.

	Minuten		Stunden	
Zeit der Chloroformeinwirkung	15	45	1	24
Wachstum	—	—	—	—

3. Abtötung von Bact. Coli in trockenem Chloroform.

	Minuten		Stunden	
Dauer der Chloroformeinwirkung . . .	15	45	1	24
Wachstum	++	++	++	++

Nach diesen Versuchen kommt auch dem getrockneten, also vollkommen wasserfreien, flüssigen Chloroform durchaus

keine Desinfektionswirkung zu. Dies gilt indessen nicht von dem gewöhnlichen, zur Narkose verwendeten Chloroform, welches immer etwas feucht ist, oder aus den Geweben, mit welchen es etwa in Berührung gebracht wird, Feuchtigkeit aufnimmt. Dieses desinfiziert vielmehr sehr kräftig und steht hierin dem Chloroformwasser kaum nach.

V. Wirkung des Chloroforms auf schwer sterilisierbare Flüssigkeiten.

1. Milch.

Die Sterilisierung von frischer Kuhmilch gelang nur insofern, als einige, mit der Platinöse entnommene Proben, auf Bouillon kein Wachstum erzeugten. Aber ganz steril war auch diese Milch nicht.

Stand sie, nach Entfernung des Chloroforms, lange genug im Brutschrank, so trat immer Wachstum ein. In der Mehrzahl der Fälle fand sich ein sporenhaltiger, beweglicher Bazillus, der ein dem Bac. Mesentericus sehr ähnliches Häutchen auf der sonst klaren Bouillon bildete. Nach dem mikroskopischen Ausstrich schien er in Reinkultur gewachsen zu zu sein. Wurde nun die Milch durch Chloroformzusatz auch nicht steril, so zeigte sich doch, dass weder Säuerung noch Gerinnung eintrat, solange noch Chloroform beigemengt blieb. In diesem Zustande hielt sie sich auch noch drei Tage lang im Brutschrank, nachdem sie schon von Chloroform befreit war. Nach Ablauf dieser Frist trat allerdings Gerinnung ein.

Tabelle XI.

Einwirkung von Chloroform auf frische Milch.
Wachstum nach drei Tagen.

Chloroformzusatz	0%	1/4 %	1/2 %	1 %	3 %	5 %
Gelöstes Chloroform . . .		+	+	+		
Chloroformdampf	+		+	+	+	−

Tabelle XII.

Wachstum nach zwei Tagen.

Chloroformzusatz	0 %	3 %	4 %	5 %	6 %	7 %	10 %
Chloroform in Lösung	+	+		—			
Chloroformdampf . .	+	+	+	—	+	+	—

Sämtliche Röhrchen standen 2 Tage unter Chloroformwirkung, den 5. Tag ohne Abschluss gegen Verdunstung im Brutschrank. Die darauf erfolgte Ueberimpfung auf Bouillon ergab bei 3 Röhrchen kein Wachstum; diese wurden im Vaccuum entgast und zeigten nach 3 Tagen im Brutschrank Gerinnung.

Die Sterilisierung der Milch mit Chloroform war also nicht gelungen. Besser gelang die Konservierung, die schon Salkowski und Kirchner mit gutem Erfolg versucht hatten. „Nur liess sich die so konservierte Milch als Nahrungsmittel nicht verwenden, da der anhaftende Chloroformgeschmack selbst durch Kochen nicht entfernt werden konnte.“[1])

Es lohnte sich wohl der Mühe die Aufgabe dieser Milchkonservierung von neuem aufzunehmen. Ich brachte Milchproben, je eine von 250 und 50, 3 von 30 ccm fünf Tage lang bei 37° in Chloroformdampf. Die Milch zeigte teils keine Veränderung, teils war sie oben gelblich und hatte unten einen weissen, rahmähnlichen Bodensatz. Nun wurde unter Erwärmen auf 50° erwärmte filtrierte Luft hindurchgeleitet. In einer der Proben von 30 ccm Milch fand sich nach einer Stunde noch ein schwacher, süsser, nicht unangenehmer Chloroformgeschmack; nach zwei Stunden war auch dieser verschwunden, und die Milch wurde von Unbeteiligten, neben einer Probe frisch gekochter Milch bald für frische, bald für gekochte Milch gehalten. Jedenfalls war jeder Chloroformgeschmack verschwunden. Aber die Milch hatte doch einen etwas matteren Geschmack als frische Milch bekommen, sei

1) Ein Einwand, der bei der Besprechung der Arbeit Salkowskis in der Freien Vereinigung der Chirurgen Berlins — 4. Juni 1888 — gemacht wurde.

es durch das Chloroform, sei es durch das zweistündige Durchleiten von Luft, sei es infolge fünftägiger Erwärmung auf 37° C.

Die anderen vier Proben wurden nach Entfernung des Chloroforms in den Brutschrank gestellt und zeigten sämtlich Bakterienwachstum, drei davon wieder das „Mesentericus"-häutchen.

2 Eiweissharn.

Frischer, bakterienhaltiger Eiweissharn wurde in abgeschmolzenen Reagenzgläsern durch 1% Chloroform nach drei Tagen steril.

Tabelle XIII.

Chloroform . .	0%	1/4%	1/2%	1%	3%
Kolonien in 1 ccm	10000	0	2000	0	0

Unter einem undichten Verschlusse wurden 3/4 Liter des gleichen Eiweissharns mit 1% Chloroform in einem Glaskolben behandelt.

Auch nach Verdunstung alles Chloroforms war die Flüssigkeit nach drei Monaten noch völlig klar und steril und war nach einem Jahr noch völlig klar. Die sehr geringe Eiweisstrübung, die anfänglich aufgetreten war, verschwand wieder.

3. Faulender Harn.

Die gleichen Erfolge brachten Desinfektionsversuche mit faulendem Harn, sowohl in abgeschmolzenen Reagensgläsern, wie unter Kautschukverschluss.

Tabelle XIV.

Verschluss	Chloroformzusatz	0%	1/10%	1/2%	1%	3%
durch Abschmelzen	in den Urin	+	?	?	—	—
durch Gummistopfen	in den Wattepfropf	++	++	—	—	—

4. Serum mit Bact. Coli und Bacillus Mesentericus.

Ein carcinomatöses Peritonalexsudat, das zwei Tage in einem unsterilisierten Glase (im Sommer) gestanden hatte, wurde mit Bact. Coli und Bazillus mesentericus vulg. geimpft. Auf den tief eingeschobenen Wattepfropf der Reagensröhrchen wurde Chloroform getropft. Dann blieben die Röhrchen vier Tage lang teils ohne Verschluss, teils kamen sie in einen Exsikkator in Chloroformdampf.

Tabelle XV.

a. Offene Reagensgläser mit Chloroform im Wattepfropf.

Chloroform . . .	0%	1%	3%	5%	10%
Bact. Coli . . .	++	−	+	+	−
Bacillus mesentericus	++	+	+	+	+

b. In Chloroformdampf, zugleich mit Chloroform im Wattepfropf.

Chloroform im Wattepfropf	0%	0%	0%	1%	3%	5%	10%
Bact. Coli	−	−	−	−	−	−	−
Bacillus mesentericus .	−	−	+	+	+	+	−

Sämtliche Röhrchen wurden unter der Luftpumpe bei 30° möglichst von ihrem Chloroform befreit und dann, nach fünftägigem Offenstehen im Brutschrank, durch Ueberimpfen auf Bouillon auf Bakterienwachstum geprüft.

5. Jauchiges, pleuritisches Exsudat bei Lungengangrän.

5 Reagensgläser, mit dem angegebenen Exsudat beschickt und 5 Tage lang mit chloroformgetränkten Wattestopfen behandelt, zeigten sämtlich Wachstum von Bacillus mesentericus, Bacillus subtilis und einem kurzen Bazillus, der sich

nur in einem Röhrchen mit 1 % Chloroformzusatz vorfand. Alle Röhrchen wurden nochmals in Chloroformdampf gestellt. Nach 2 Tagen waren 2 Röhrchen steril, die andern zeigten Häutchen von subtilis und mesentericus auf sonst klarer Bouillon. Der kleine Bazillus aber war verschwunden.

6. Ascites-Serum vom Sektionstisch mit Kot gemischt

ergab nach zweitägiger Behandlung folgende:

Tabelle XVI.

a) Offene Reagensgläser mit Chloroform in Wattestopfen.

Chloroform . . .	0 %	1/2 %	1 %	2 %	3 %	5 %	10 %
Wachstum	++	++	+	+	+[1]	—	—

b) In Chloroformdampf.

Röhrchen Nr. .	1	2	3	4
Wachstum . .	—	—	—	+[2]

Ein anderer Teil des gleichen Serums wurde 2 Tage lang in einem Glaskolben mit gelöstem Chloroform behandelt. Es hatte sich darin der erwähnte kleine Kettenbazillus erhalten. Das Serum wurde dann in Reagensgläser abgefüllt und wie oben behandelt. Das Versuchsergebnis war hier ungünstig. Mit Ausnahme eines einzigen Röhrchens trat überall Wachstum von Bacillus mesentericus ein, vielleicht weil Reagensgläser des Versuches 4 — Tabelle XV — benützt wurden, bei denen die Sublimatreinigung möglicherweise nicht alle Sporen von Bac. mesentericus vernichtet hatte.

1) Kleiner Kettenbazillus.
2) Bacillus mesentericus.

7. Serum mit filtriertem Kanalschlamm versetzt.

5, mit dem angegebenen Serum beschickte Röhrchen wurden bei 27° C., 5 bei 37° C. 2 Tage lang in Chloroformdampf gebracht. Von allen Röhrchen blieben 2 ohne aërobes Wachstum, 2 andere ohne anaërobes Wachstum, aber steril wurde keines. Mikroskopisch fanden sich dem Bac. mesentericus und Bac. subtilis ähnliche Bazillen, ferner ein den Bac. anthracis an Grösse übertreffender und ein kleiner Bazillus, die beide Sporen bildeten, endlich 2 andere Bazillen mit mittelständigen und endständigen Sporen. Bei dem stark verunreinigten Serum war die Desinfektion durch Chloroform nicht gelungen, vielleicht weil die Zeit der Einwirkung — 2 Tage — für diese widerstandsfähigen Sporen zu kurz war.

8. Pleuratranssudat vom Sektionstische.

Von 3 Kölbchen mit 100 g Serum und 5% Chloroform wurden 2 steril, im 3. trat Wachstum ein (grosse und kleine Streptococcen), anscheinend infolge undichten Verschlusses.

9. Peritonealexsudat.

Von 4 Kölbchen mit verunreinigtem Peritonealexsudat wurden zwei steril. Die beiden andern lieferten nach Ueberimpfung auf Bouillon ein Häutchen von Mesentericusbazillen. Von den sterilen, wie von den nicht sterilen Röhrchen war je eines mit gelöstem, das andere mit gasförmigem Chloroform behandelt worden. Die Dauer der Chloroformeinwirkung betrug 3 Tage.

10. Fleischwasser.

4 Röhrchen, mit Fleischaufguss gefüllt, wurden durch Wattepfropfen verschlossen und im Exsikkator unter Chloroformdampf gebracht. 3 Röhrchen waren nach 5 Tagen steril, das 4. zeigte bei Ueberimpfen auf Bouillon ein Mesentericushäutchen auf sonst klarer Bouillon. In allen Röhrchen war

dieses Mal ein starker Eiweissniederschlag eingetreten, der sich gesenkt hatte. Das übrige, noch reichlich eiweisshaltige Fleischwasser liess sich klar abschütten. Seine Fähigkeit als Nährboden hatte durchaus nicht gelitten; denn, nachdem es 2 Tage offen gestanden, war soviel Chloroform abgedunstet, dass die gegen Chloroform sehr empfindlichen Cholerabazillen darin in üppiger Kultur gezüchtet werden konnten.

11. Serum mit Sporen von Bac. mesentericus versetzt.

10 Röhrchen mit Serum und zahlreichen Sporen von Mesentericus beschickt, wurden teils bei 27 °, teils bei 37 ° in Chloroformdampf gebracht. Nach Ablauf von 3 Tagen entstand, als alles Chloroform ausgetrieben war, in sämtlichen Röhrchen reichliches Wachstum von Bac. mesentericus. Später fand ich die noch weit grössere Widerstandsfähigkeit der Mesentericussporen; selbst nach zweimonatlicher Chloroformeinwirkung war keine Schädigung nachzuweisen. Wenn in früheren Versuchen das eine oder andere Mal Abtötung durch Chloroform eingetreten war, so konnte es sich nicht um Sporen, mindestens nicht um voll entwickelte gehandelt haben.

12. Milzbrandbazillen im Gewebe.

Eine Maus, die an Milzbrand verendet war, wurde seciert und unter Chloroformdämpfe gebracht. Nach 5 Tagen zeigten sich Milz und Darminhalt steril, während vorher aus der Milz zahlreiche Milzbrandkolonieen gezüchtet worden waren. Die Milz selbst war brüchig und zeigte eine Art Härtung, die beim Offenstehen an der Luft wieder zurückging.

VI. Abtötungszeiten bekannter Bakterien in Chloroformdampf.

Die Zeit, die zur Abtötung der Bakterien durch Chloroformdampf nötig ist, wurde nur für einige und zwar pathogene Bakterien bestimmt. Die Abtötung geschah in Exsikkatoren, in denen Chloroform und Wasser aus 2 getrennten Gefässen

verdunsteten. Als Testobjekte dienten eintägige Bouillonkulturen der genannten Bakterien auf Deckgläschen über Schwefelsäure angetrocknet. Nur die Cholerakultur blieb feucht, weil sie durch Antrocknen zu sehr gelitten hätte. Trockene Bakterien wurden verwendet, weil anzunehmen war (nach S. 18), dass diese widerstandsfähiger gegen Chloroform sein würden, als befeuchtete.

Tabelle XVII.

Abtötung in feuchten Chloroformdämpfen.

Bacterium	Kontrolle	Minuten				Stunden		
		10	20	30	40	1	$1^1/_2$	3
Vibrio Cholerae . .	∞	0	0	0	0	0		
Bac. Typhi . . .	∞	0	0	0		0		0
Bac. Pyocyaneus . .	∞	?	0	0	0	0		
Bac. Diphtheriae . .	ca. 50	2?	0	0		0		0
Bact. Coli comm. . .	∞	2	0	0		0		0
Staph. aurens . . .	∞	4	0	0	0			
Streptococcus pyogenes	∞	0	7	0		0	0	0

Von schwer zu desinfizierenden Sporen wurden die des Bacillus Tetani, Anthracis und von mesentericus vulgatus feuchtem Chloroformdampf ausgesetzt. In allen waren reichliche Sporen vorhanden. Von Milzbrand wurden die Sporen im hängenden Tropfen gezüchtet und der ganze Tropfen in Chloroformdampf gebracht.

Tabelle XVIII.

Abtötung von Sporen in Chloroformdampf.

	Wachstum nach				
	1 Tagen	4	$2^1/_2$ Monaten (3 Deckglasproben)		
Tetanussporen	—	—	—	—	—
Milzbrandsporen	+	++	—	—	—
Mesenteriussporen	++	++	++	++	++

Die Wiederholung des Versuches führte zu den gleichen Ergebnissen. 1 hängender Tropfen mit Milzbrandsporen wurde nach 2 Monaten vollkommen steril. Ebenso 4 Deckgläser mit reichlichen Tetanussporen, während Mesentericussporen auch nach 2 Monaten noch reichliches Wachstum zeigten.

Die Milzbrandsporen waren virulent, aber nicht auf ihre Widerstandsfähigkeit geprüft. Es ist deshalb möglich, dass sehr widerstandsfähige Milzbrandsporen auch nach einer Chloroformeinwirkung von 2 Monaten noch wachsen können. Rob. Koch giebt an, dass selbst nach 100 Tagen Chloroform auf Milzbrandsporen sich unwirksam zeige. Vielleicht gilt dies nur für wasserfreies, flüssiges Chloroform, welches für Bakterien überhaupt unschädlich ist.

Die schon oft erwähnte ausserordentliche Widerstandsfähigkeit von Mesentericussporen gegen Chloroform in dampfförmigem und flüssigem Zustand legte den Versuch nahe, die Konzentration der wässerigen Chloroformlösung durch Zusatz von verdünntem Alkohol zu verstärken. Aber auch hierin blieben Mesentericussporen nach Ablauf von 2 Monaten noch vollkommen wachstumsfähig.

VII. Chloroform als Sterilisationsmittel von Nährböden.

Aus allen mitgeteilten Versuchen geht hervor, dass Chloroform nicht nur ein gutes Antiseptikum, sondern unter gewissen Bedingungen auch ein gutes Sterilisationsmittel ist. Vor allem eignen sich Chloroformdämpfe zur Sterilisierung eiweisshaltiger Nährböden. Vorzüge des Verfahrens sind Einfachheit, Sicherheit und geringe Schädigung des Nährbodens; denn da das Chloroform von selbst wieder sehr rasch verdampft, so wird der Nährboden auch zur Kultur empfindlicher Bakterien alsbald wieder geeignet.

Die oben genannte Sicherheit der Sterilisierung mit Chloroformdampf erleidet nur eine Einschränkung gegenüber einigen als äusserst widerstandsfähig bekannten Sporen, namentlich denen des Heubazillus (Bac. subtilis) und

Kartoffelbazillus (Bac. mesentericus). Meist blieben bei der Chloroformbehandlung stark verunreinigter Flüssigkeiten, wenn diese nicht vollkommen steril wurden, nur die beiden Sporenarten übrig. Wuchsen noch andere Bakterien auf, so war entweder ein Versuchsfehler nachweisbar, oder die Einwirkung des Chloroforms war zu kurz, jedenfalls viel kürzer als 5 Tage.

Da Subtilis- und Mesentericussporen von Chloroform nicht angegriffen werden, so ist die Infektion des Serums mit diesen Sporen möglichst zu vermeiden. Diese Forderung lässt sich meist leicht erfüllen; sie gilt indessen auch für die Herstellung von Nährböden, die eine Sterilisierung mit strömendem Dampf vertragen. Denn auch in strömendem Dampf lässt sich die Infektion mit Kartoffelbazillen nur schwer beseitigen, zumal aus Nährgelatine.

Ein Nachteil der Sterilisierung mit Chloroform ist die, wenn auch meist geringe, Eiweissfällung im Serum, auf die schon Kirchner hingewiesen hat. Ich selbst fand die Trübung des Chloroformserums nicht störend und bei Anwendung von Chloroformdampf auch geringer, als wenn gelöstes Chloroform benutzt wurde. Hier bildete sich unmittelbar über der Chloroformschicht ein starker Eiweissniederschlag. Die Trübung war ausserdem abhängig von der Dauer der Chloroformeinwirkung, die bei Chloroformdampf leicht zu regeln ist. Für wenig infiziertes Serum, das in gut gereinigten Gefässen aufgefangen wurde, genügt zur Sterilisierung kurze Zeit, 1—2 Tage; man erhält dann nur geringe Trübung. Stark verunreinigtes Serum verlangt allerdings 5—8 Tage Desinfektionszeit, wodurch die Trübung stärker wird. Manchmal sinkt auch der Niederschlag zu Boden, der Rest der Flüssigkeit bleibt klar (s. S. 24). Endlich schien die Eiweissfällung von der Art des verwendeten Eiweisses abzuhängen. Eiweissurin trübte sich kaum und wurde nach Verdunstung des Chloroforms wieder vollkommen klar. Peritoneal- und Pleuraexsudat zeigten schwache Trübung, die indessen nach Entfernung des Chloroforms im Vacuum oder durch freie Verdunstung bis auf eine geringe Opalescenz zurückging. Sehr viel Eiweiss, nahezu $^3/_4$ des gesamten

Gehalts, schied sich bei Fleischwasser aus; doch gerade hier wurde der Rest der Eiweisslösung, nachdem diese vom Niederschlag abgeschüttet war, vollkommen klar und zeigte auch nicht eine Spur von Trübung. Erst in der Hitze schied sich dann das übrige Eiweiss aus.

Bei dem Erstarren des Chloroformserums tritt etwas stärkere Trübung ein, auch wenn das Serum vorher unter der Luftpumpe von Chloroform befreit und klar war. Auch hier liessen sich aber Kolonien von Bact. Coli deutlich erkennen; jedenfalls war die Trübung nicht so stark, dass das erstarrte Serum zu Kulturen unbrauchbar wurde. Benutzt man Serum nur als Zusatz zu Agar, so lässt sich hierzu Chloroformserum ebensogut verwenden, wie das fraktioniert sterilisierte. An Durchsichtigkeit steht es ihm hier nicht nach, da es nicht erhitzt wird; zudem hat es den Vorzug einfacherer, billigerer und zuverlässigerer Sterilisierung.

VIII. Schlussergebnisse.

Chloroform hat in gasförmigem, flüssigem und gelöstem Zustande eine stark desinfizierende Wirkung, die sich unter folgenden Bedingungen zeigt:

1) Chloroform desinfiziert nur bei Gegenwart von Wasser.

Spuren von Feuchtigkeit genügen. Mit Chlorcalcium getrocknetes Chloroform desinfiziert nicht.

2) Chloroform in Lösung verlangt zur Desinfektion luftdichten Verschluss.

Es entsteht sonst durch die Verdunstung an der Oberfläche eine chloroformarme Schicht, während die tiefen Schichten gesättigt bleiben und auch von einem Chloroformüberschuss nichts mehr lösen können. Der Grund für diese ungleichmässige Mischung der Lösung ist das hohe spezifische Gewicht des Chloroforms.

Sicherer Verschluss gegen Chloroformverdunstung lässt sich herstellen:

a) durch eingeschliffene Glasstopfen, deren Schlifffläche durch Wasser, Glycerin oder Unguent. glycerini abgedichtet ist. S. 9.

b) Durch Kautschukstopfen auf Glasflaschen, die umgelegt oder umgekehrt werden, so dass die Chloroformlösung den Pfropfen vollständig bedeckt. S. 12.

c) In abgeschmolzenen Glasröhren.

3) Chloroformdämpfe erfordern keinen luftdichten Abschluss und desinfizieren bei stärkerem Chloroformverbrauch auch ohne jeden Abschluss gegen Verdunstung.

Gasförmiges Chloroform eignet sich besonders gut zur Sterilisierung fertig abgefüllten Serums und zwar in folgender Art:

Mit Serum gefüllte, durch Watte verschlossene Reagensgläser werden in ein Gefäss mit gesättigtem Chloroformdampf gebracht, nach 5 Tagen wieder herausgenommen und 2 Tage zur Abdunstung offen hingestellt. Gewöhnliches Serum ist dann steril und gebrauchsfähig; stark verunreinigtes erfordert jedoch zur Kontrolle ein mehrtägiges Einstellen in den Brutschrank, damit nicht sterilisierte Röhrchen am Bakterienwachstum erkannt und ausgeschieden werden können.

Chloroformdampf tötet ab:

Vibrio Cholerae	innerhalb	10	Minuten
Bac. Typhi	„	10	„
Bac. pyocyaneus	„	20	„
Bac. Diphtheriae	„	20	„
Bact. Coli comm.	„	20	„
Staph. aureus	„	20	„
Strept. pyogenes	„	30	„

Sporen von Bac. Tetani vor 4 Tagen
„ „ Bac. Anthracis vor 2 Monaten
„ „ Bac. subtilis nicht
„ „ Bac. mesentericus nicht.

Herrn Professor Dr. Kramer, unter dessen Leitung ich die Untersuchung ausführen konnte, spreche ich hiermit meinen Dank aus.